

Nanoparticules et risque humain

Marie Carrière

Résumé Les nanoparticules sont utilisées dans de nombreux produits de consommation courante. Elles suscitent l'espoir de thérapeutiques nouvelles, de technologies plus productives et moins polluantes, mais également le doute car leurs effets sur la santé et l'environnement sont peu connus. Nous sommes tous potentiellement exposés à ces substances nouvelles, aux propriétés particulières, même si aujourd'hui peu de technologies permettent de caractériser et quantifier cette exposition. Les organes cibles potentiellement atteints par les nanoparticules sont la peau, le poumon et le tractus gastro-intestinal. Ces organes sont directement exposés en cas de contamination accidentelle des travailleurs dans les usines de production ou en cas d'utilisation de produits contenant des nanoparticules par les populations. Des études démontrent également que les nanoparticules peuvent traverser ces barrières naturelles, atteindre la circulation sanguine et se déposer dans les organes internes : foie, reins, rate, cerveau. La biodistribution et les effets des nanoparticules sur ces organes dépendent à la fois de leur composition, leur taille, leur forme, leur pureté, mais également de leur stabilité, c'est-à-dire de leur capacité à se dissoudre ou à s'agglomérer. Si les connaissances relatives à leurs effets toxiques sont encore parcellaires, la volonté de développer des nanoparticules par éco-conception – selon des critères les rendant plus sûres pour les utilisateurs et les manipulateurs, tout en préservant les propriétés qui les rendent si prometteuses – est aujourd'hui dans l'air du temps.

Mots-clés **Nanoparticules, toxicité, biodistribution, sécurité, impact.**

Abstract **Nanoparticles and human risks**

Nanoparticles are used in a number of commercial goods. They are a source of hope for new therapeutics, new energy production tools with higher efficiency and lower environmental impact. They are also a source of concern since their health and environmental impact are today poorly known. We are all potentially exposed to these new substances, even if it is still difficult to characterize and quantify this exposure. Target organs are the skin, the lungs, and the gastro-intestinal tract. These organs may be directly exposed when products containing nanoparticles are used. Recent studies prove that some nanoparticles are also able to pass through these physiological barriers, reach the bloodstream and deposit in internal organs such as the liver, kidneys and brain. Their impact depends on their chemical composition, size, shape, purity, as well as on their stability, *i.e.* their dissolution and/or agglomeration potential. Knowledge concerning their toxic effects is still fragmentary, but the current trend is to develop safe-by-design nanoparticles, following criteria that would preserve their interesting properties while ensuring that they would be safer for the environment and the populations.

Keywords **Nanoparticles, toxicity, biodistribution, safety, impact.**

Des nanoparticules partout

« *Aujourd'hui, les nanoparticules sont partout* » peut-on lire sur de multiples sites Internet et forums, dans des revues spécialisées ou de vulgarisation. Qu'on les nomme substances à l'état nanoparticulaire comme le législateur, nanoobjets, nanoparticules ou nanomatériaux, elles entrent aujourd'hui dans la composition de nombreux produits de grande consommation, comme le montre l'inventaire dressé par le Woodrow Wilson Institute [1]. Elles sont partout parce que la nature elle-même en produit : feux de forêts, éruptions volcaniques, métabolisme des organismes vivants. Beaucoup de molécules chimiques en génèrent également ; n'étant pas stables dans les milieux naturels, elles s'agrègent parfois sous forme de précipités de tailles nanoparticulaires : ce sont des nanoparticules. Partout également parce que les activités humaines en produisent indirectement : fumées de soudage, moteurs à combustion...

Mais aujourd'hui, une classe de nanoparticules est la source de nombreuses interrogations : les nanoparticules manufacturées (« *engineered nanoparticles* »). Produites intentionnellement par l'homme pour des applications

industrielles ou médicales, elles amènent un bénéfice certain, mais créent également le doute car ce sont des substances nouvelles, aux effets peu connus et tellement petites qu'on ne peut les voir à l'œil nu ou sous un simple microscope optique. Ces nanoparticules apportent néanmoins l'espoir de thérapeutiques nouvelles, de systèmes énergétiques moins polluants et plus productifs. Elles donnent naissance à des technologies nouvelles, qui facilitent la communication entre les personnes et améliorent notre confort : ordinateurs plus compacts, électronique embarquée dans les voitures, téléphones portables et tablettes.

Définition

La Commission européenne a adopté le 18 octobre 2011 une définition des substances à l'état nanoparticulaire, émanant des travaux du SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks) et du JRC (Joint Research Center, Commission européenne). Cette définition, largement commentée sur les forums, est disponible sur le site de la Commission [2].



© Fotolia.com/stokkete.

Les nanoparticules ont donné naissance à des technologies nouvelles qui facilitent la communication entre les personnes et améliorent notre confort : ordinateurs plus compacts, téléphone portables, tablettes...

Ainsi une substance à l'état nanoparticulaire est une substance naturelle, formée accidentellement ou manufacturée (voir encadré) ; contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat ; dont au moins 50 % (en nombre) des particules présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm. Certains trouvent cette définition maladroite, trop vague ou trop technique ; elle reflète toutes les contraintes auxquelles la Commission a été soumise, et le texte rend compte des difficultés auxquelles le groupe de travail s'est heurté.

Quelques définitions

Nanoparticule naturelle : nanoparticule produite par la nature, par exemple émise lors de feux de forêt, d'éruptions volcaniques...

Nanoparticule non intentionnelle : nanoparticule émise du fait de l'activité humaine, non intentionnellement, par exemple par les fumées de moteurs.

Nanoparticule manufacturée : nanoparticule produite intentionnellement par l'homme, pour une application découlant de ses propriétés particulières.

Quelles études sur les effets sur la santé ?

Aujourd'hui, de nombreux rapports sur les effets des nanoparticules sur la santé, sur les pratiques de laboratoire visant à manipuler ces substances dans des conditions optimales de sécurité ont été publiés. On peut notamment citer les rapports de l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), publiés par l'AFSSET (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) avant la fusion avec l'AFSSA

(Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation) [3-4] et ceux de l'INRS (Institut national de recherche et de sécurité) [5]. Notons également les travaux de l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique), qui a mis en place en 2006 le Groupe de travail sur les nanomatériaux manufacturés (GTNM), visant à promouvoir la coopération internationale en matière de sécurité sanitaire et environnementale des nanomatériaux. Les travaux de ce groupe s'appuient sur les résultats des principaux acteurs internationaux de la recherche dans le domaine et recueillent des données de toxicologie relatives aux nanoparticules qui sont actuellement les plus produites dans le monde : TiO_2 , SiO_2 , Ag, nanotubes de carbone... (figure 1).

Mais que sait-on aujourd'hui des effets des nanoparticules sur la santé ?

Qui est concerné, quelles sont les voies d'exposition, quels sont les organes cibles ?

Les nanoparticules sont partout, mais qui est réellement exposé ?

Les nanoparticules étant partout, nous sommes tous plus ou moins concernés, mais deux points viennent toutefois moduler ce propos. Le risque étant communément admis comme étant la combinaison de l'exposition et du danger inhérent à la nanoparticule, alors il n'y a pas de risque s'il n'y a pas d'exposition, et il n'y a pas de risque non plus s'il y a exposition à des nanoparticules qui ne sont pas dangereuses. Si les études sur le danger des nanoparticules

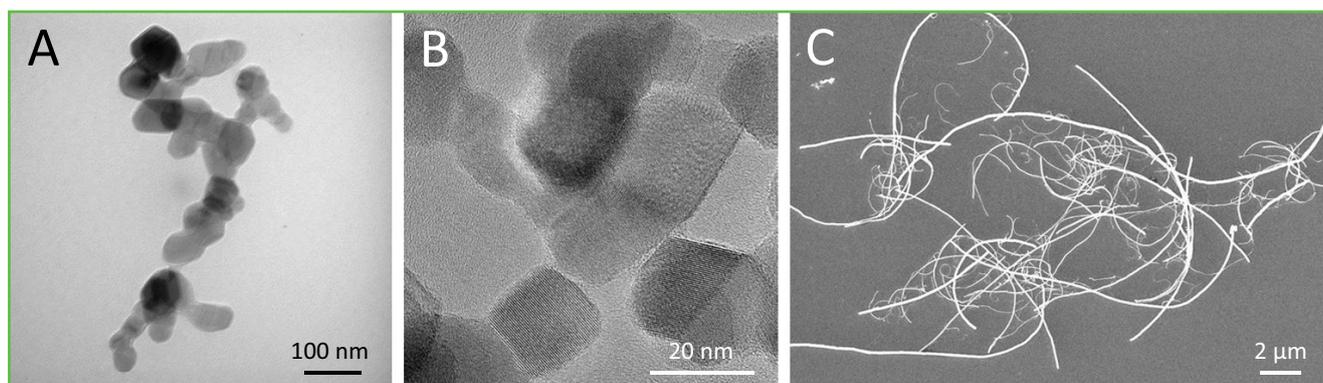


Figure 1 - Nanoparticules de TiO_2 (A, B) et nanotubes de carbone (C), observées en microscopie électronique par transmission (A, C) et en microscopie électronique à transmission haute résolution (B).

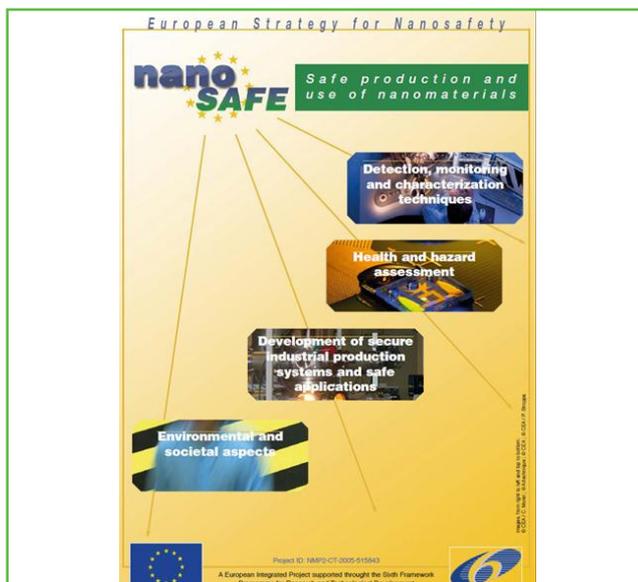


Figure 2 - Feuillelet nano-sécurité publié lors du projet européen NanoSAFE (disponible sur www.nanosafe.org).

abondent, les données d'exposition sont encore peu précises et résultent souvent de modélisations mathématiques, qui sont basées sur des scénarios probables et nécessitent des approximations. Aujourd'hui, les études visant à évaluer l'exposition des travailleurs et des populations aux nanoparticules se multiplient ; elles rendront dans un futur proche des réponses concrètes sur lesquelles les spécialistes de l'analyse du risque pourront se baser.

Ensuite des mesures de prévention efficaces existent et les personnes, notamment dans les laboratoires de recherche et dans l'industrie, peuvent se protéger et limiter au maximum l'exposition aux nanoparticules. Les projets NanoSAFE et NanoSAFE2, financés par la Commission européenne, ont abouti à la publication de livrets [6] (figure 2), dans lesquels est analysée l'efficacité des équipements de protection individuelle et collective contre l'exposition aux nanoparticules. Ils ont également abouti à la mise en place d'un site web destiné à informer le public et les travailleurs des aspects de sécurité liés à la production et l'utilisation des nanoparticules [7].

Quant à l'exposition des populations aux nanoparticules manufacturées, elle est difficilement différenciable de l'exposition aux nanoparticules générées non intentionnellement, par exemple par les moteurs à combustion. Le recul qu'a la communauté scientifique sur la connaissance des effets des nanoparticules non intentionnelles permet d'anticiper les effets que pourraient avoir les nanoparticules manufacturées. On sait notamment que les particules non intentionnelles provoquent une inflammation pulmonaire, des troubles du système cardiovasculaire, et également des effets immunoallergiques (effets adjuvants). Les études visant à établir les effets possibles des nanoparticules manufacturées se sont naturellement penchées sur les modèles pulmonaires et cardiovasculaires ; des résultats montrent aujourd'hui que les nanoparticules manufacturées provoquent effectivement une inflammation des voies aériennes. Les effets cardiovasculaires ne sont quant à eux pas démontrés. Des études récentes tendent à montrer que l'effet adjuvant des nanoparticules non intentionnelles est

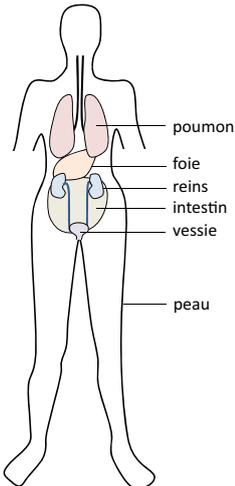
également observé lors de l'exposition à des nanoparticules manufacturées.

Trois principales voies d'exposition : pulmonaire, gastro-intestinale et cutanée

Trois principales voies d'exposition aux nanoparticules ont été identifiées : la voie pulmonaire (exposition par inhalation, par exemple exposition du travailleur à son poste de travail dans les usines de fabrication ou utilisation des nanoparticules), la voie gastro-intestinale (exposition par ingestion, par exemple consommation de produits alimentaires contenant des nanoparticules ou ayant été en contact avec des emballages alimentaires contenant des nanoparticules si ceux-ci ne sont pas stables) et la voie cutanée (exposition de la peau, par exemple application de produits cosmétiques contenant des nanoparticules) (voir encadré).

À ces trois voies s'ajoutent la voie systémique, mais qui n'est pertinente que dans le cas d'exposition intentionnelle de patients à des nanoparticules en vue d'une thérapie ou d'un diagnostic. Nous ne nous y intéresserons pas car la problématique de l'utilisation de nanoparticules en médecine est hors propos.

Trois voies d'exposition aux nanoparticules



Exposition par:

- poumon *inhalation*
- foie *ingestion*
- reins *ingestion*
- intestin *ingestion*
- vessie *ingestion*
- peau *contact cutané*

La voie pulmonaire, qui concerne notamment le travailleur dans les usines de production de nanoparticules pouvant être exposé au poste de fabrication, au moment du dépotage, lors des phases de nettoyage des réacteurs de synthèse, lors de l'emballage des nanopoudres...

La voie gastro-intestinale, notamment lors de la consommation de produits alimentaires contenant des nanoparticules, qui sont utilisées comme additifs alimentaires ou incluses dans les emballages alimentaires et potentiellement libérées dans l'aliment (voir [4, 15]).

La voie cutanée, notamment lors de l'application de produits cosmétiques contenant des nanoparticules.

Translocation : passage à travers les barrières physiologiques (peau, épithélium pulmonaire ou barrière alvéolo-capillaire, barrière gastro-intestinale, barrière hémato-encéphalique...).

En cas d'exposition, les nanoparticules peuvent exercer leurs effets sur l'organe directement exposé (poumon, tractus gastro-intestinal, peau) ou sur des organes dits secondaires, qui sont exposés si les nanoparticules traversent les barrières naturelles et sont redistribuées dans l'ensemble du corps *via* la circulation sanguine. On parle alors de translocation (voir encadré).

La voie cutanée

Dans le cas d'une exposition de la peau, plusieurs revues scientifiques s'accordent pour conclure que les nanoparticules ne traversent pas une peau non lésée au-delà des couches les plus supérieures de l'épiderme. Si des effets allergisants ou inflammatoires ont été pointés dans le passé, les études les plus récentes tendent à montrer que ces effets ne sont pas significatifs. L'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), anciennement

AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé), a toutefois émis une recommandation le 15 mars 2011 (disponible sur leur site [8]), qui stipule que par mesure de précaution et en l'absence de données précises sur leurs effets, l'emploi de produits contenant des particules de taille nanométrique sur des peaux lésées, que ce soit par blessure ou par érythème solaire, est à proscrire (sont notamment concernées par cette recommandation les crèmes solaires).

La voie gastro-intestinale

Il n'existe que très peu de données dans la littérature scientifique issues d'études – menées dans des conditions réalistes d'exposition – concernant l'exposition par ingestion. Quelques études s'attachent à évaluer les effets et la translocation de nanoparticules lors d'une exposition aiguë, c'est-à-dire une exposition à de fortes doses et pendant des temps courts. Or si nous sommes exposés à des nanoparticules par ingestion, c'est plutôt en mode chronique, c'est-à-dire à de faibles doses et pendant des temps très longs. Les études dont les résultats ont été publiés jusqu'à présent sont donc informatives mais doivent être complétées par des études menées selon des scénarios d'exposition plus réalistes. Par ailleurs, les études menées lors d'expositions aiguës ne montrent que peu de translocation des nanoparticules à travers la barrière gastro-intestinale.

La voie pulmonaire

Le volume de données traitant des effets et de la translocation des nanoparticules lors d'exposition pulmonaire est beaucoup plus important. Tout d'abord plusieurs études montrent que les nanoparticules peuvent traverser la barrière pulmonaire. Ces études, menées il y a maintenant une dizaine d'années à l'aide de traceurs radioactifs nanoparticulaires, ont permis d'identifier des organes secondaires potentiels, le foie et la rate, dans lesquels les nanoparticules s'accumulent lorsqu'elles sont transférées au réseau sanguin et prises en charge par le système réticuloendothélial. Les reins sont également des organes cibles secondaires, et ils sont atteints par les nanoparticules les plus fines, les plus furtives, qui ne sont pas vues par le système réticuloendothélial [9]. Les nanoparticules auraient également la capacité de passer la barrière placentaire. On note ici l'influence des caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, qui régissent non seulement leurs effets, mais également leur

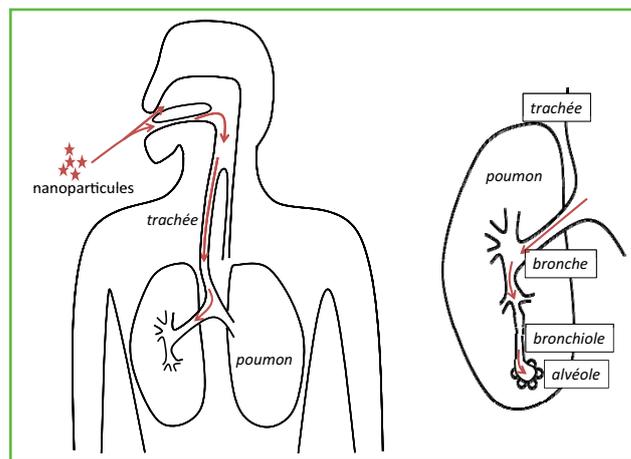


Figure 3 - Trajet des nanoparticules dans les voies respiratoires lors d'une exposition par inhalation.

devenir dans l'organisme. Le transfert de nanoparticules vers le cerveau a également été identifié il y a une dizaine d'années, lors d'expositions par inhalation. En effet, dans les voies aériennes supérieures débouchent les nerfs olfactifs qui relient directement, c'est-à-dire sans passage par la barrière hématoencéphalique, le nez au cerveau. Les nanoparticules auraient la capacité de transiter le long de ces nerfs pour atteindre le cerveau.

Lors d'une exposition par inhalation (figure 3), le dépôt des nanoparticules au sein des voies respiratoires n'est pas uniforme et dépend de leur diamètre. Un diagramme de dépôt théorique des nanoparticules, construit grâce au modèle de la Commission internationale de protection radiologique (CIPR), est proposé dans le rapport de l'INRS [5]. Il montre que les nanoparticules ayant un diamètre compris entre 10 et 100 nm se déposent majoritairement dans les alvéoles, et que les plus fines, de diamètre inférieur à 5 nm se déposent plutôt dans les zones extra-thoraciques de l'arbre respiratoire (fosses nasales, bouche, larynx...).

En fonction de leur diamètre, les nanoparticules sont donc susceptibles d'entraver le bon fonctionnement de différentes fonctions du poumon : respiration, clairance pulmonaire, production de mucus... La plupart des études traitant de l'effet des nanoparticules sur le poumon découlent de protocoles expérimentaux consistant à exposer des animaux de laboratoire à des nanoparticules par instillation intranasale ou intratrachéale. De rares études traitent de leur effet lors d'exposition par inhalation, car peu de laboratoires disposent aujourd'hui de l'équipement permettant de générer un aérosol de nanoparticules et d'y exposer des animaux. Les résultats de ces études montrent que les nanoparticules induisent une réponse inflammatoire des poumons, détectée par l'accumulation de cytokines pro-inflammatoires dans le liquide bronchoalvéolaire et dans le tissu pulmonaire lui-même. Cette réponse se caractérise également par le recrutement de neutrophiles dans le liquide bronchoalvéolaire. C'est le cas par exemple lors de l'exposition d'animaux de laboratoire à des nanotubes de carbone [10]. Cette réponse inflammatoire de phase aiguë est souvent accompagnée par la formation de granulomes multifocaux, qui sont des amas de cellules inflammatoires contenant des agglomérats de nanotubes de carbone. Ces granulomes sont encore observables six mois après l'exposition initiale. L'apparition d'une fibrose pulmonaire a également été observée



© Fotolia.com/Adam Gregor.

Quel risque pour les travailleurs directement exposés aux nanoparticules ?

quelques semaines après l'exposition pulmonaire à des nanotubes de carbone, et elle persiste après six mois. Finalement, cette réponse pulmonaire est typique de celle observée lors d'une exposition à un corps étranger. Ce type de réponse est également observé lors d'exposition pulmonaire à des nanoparticules de TiO₂ [11]. Ces études ont été menées sur des animaux exposés à des doses massives de nanoparticules, qui ne reflètent pas les conditions d'exposition des populations ou du travailleur à son poste de travail. Elles étaient indispensables et permettent de connaître la réponse des organismes vivants dans le pire des scénarios, mais doivent à présent être complétées par des expérimentations dans des conditions plus réalistes.

À l'échelle cellulaire, quels sont les effets potentiels des nanoparticules ?

Les nanoparticules s'accumulent-elles dans les cellules ? Comment et pour quelle durée ?

L'accumulation des nanoparticules dans les cellules a été démontrée, que ce soit dans des cellules eucaryotes ne présentant pas de paroi, dans les cellules eucaryotes présentant une paroi (comme les cellules végétales) ou dans les cellules procaryotes qui présentent elles aussi une paroi.

Dans le cas des cellules constituant les organes humains et animaux, les nanoparticules sont principalement internalisées par endocytose, même si quelques études montrent que les nanoparticules les plus fines pourraient diffuser à travers la membrane plasmique ou emprunter des transporteurs normalement destinés à l'internalisation de molécules biologiques. Selon leur taille et leur état d'agglomération, les nanoparticules empruntent alors des voies d'endocytose différentes : phagocytose (absorption de particules de grande taille dans les cellules phagocytaires uniquement) ou pinocytose (endocytose en phase fluide), cette dernière se déclinant en macropinocytose (vésicules > 1 μm), endocytose médiée par la clathrine (vésicules ~ 120 nm), endocytose dépendante des caveolae (vésicules ~ 60 nm) et endocytose indépendante de la clathrine et des caveolae (vésicules ~ 90 nm). Leur devenir cellulaire est alors variable, même si la plupart des études publiées montrent que les nanoparticules se regroupent rapidement dans des vésicules intracellulaires de type vacuole ou lysosomes (figures 4 et 5).

L'accumulation nucléaire des nanoparticules est rare et se limite aux nanoparticules les plus fines (diamètre inférieur à 5 nm) et aux situations dans lesquelles l'accumulation nucléaire est recherchée. Dans ce cas, la nanoparticule est volontairement ciblée vers le noyau, par exemple au moyen d'un couplage en surface de séquences de localisation nucléaire. Ces situations s'adressent donc plutôt à l'utilisation de nanoparticules à visée thérapeutique. D'autres rares cas de transfert de nanoparticules de diamètre supérieur à 5 nm vers le noyau ont été mentionnés, mais il est très probable que les nanoparticules atteignent ce compartiment cellulaire lorsque la paroi nucléaire est rompue, en particulier lors de la mitose. L'accumulation de nanoparticules dans

les mitochondries n'est également que rarement rapportée dans la littérature.

Quant à la persistance des nanoparticules dans les cellules après leur accumulation, peu d'articles traitent de ce sujet. Néanmoins, il semblerait que les nanoparticules les plus inertes (inerte signifiant ici non soluble) persisteraient dans les cellules une fois qu'elles y sont accumulées.

Des effets communs à de nombreuses nanoparticules : stress oxydant, inflammation, mais également dommages à l'ADN

Lorsque les nanoparticules s'accumulent dans les cellules, ou simplement lorsqu'elles s'adsorbent sur la membrane plasmique, l'effet cellulaire le plus couramment rapporté est l'induction d'un stress oxydant. De quoi s'agit-il ? Le métabolisme cellulaire génère continuellement des espèces réactives telles que les espèces réactives de l'oxygène (ROS). La cellule possède un arsenal d'outils lui permettant de s'en défendre : antioxydants moléculaires tels que le glutathion, enzymes dites antioxydantes telles que la superoxyde dismutase ou la catalase, dont l'action est de

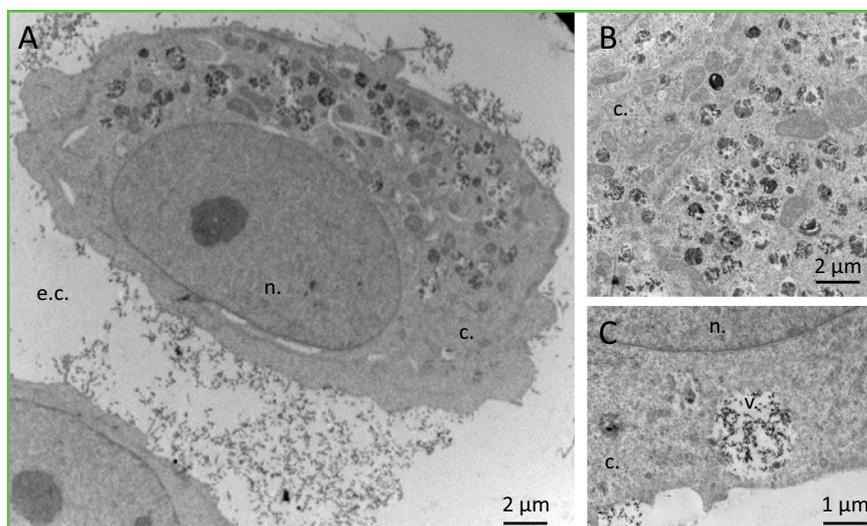


Figure 4 - Accumulation de nanoparticules de TiO₂ dans des cellules pulmonaires en culture. Les nanoparticules se logent dans le cytoplasme (A, B), dans des vésicules ou vacuoles (C).

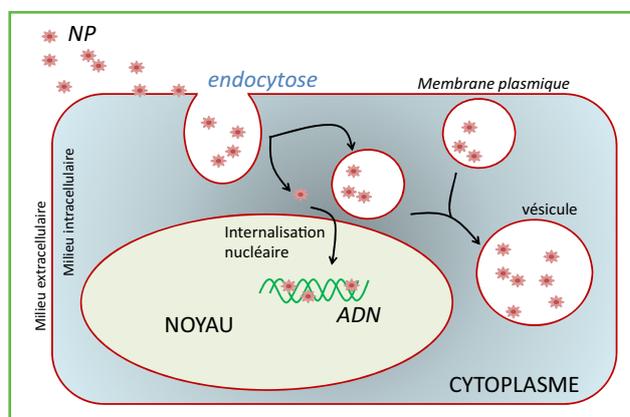


Figure 5 - Représentation schématique de l'accumulation et de la répartition de nanoparticules dans des cellules.

Les nanoparticules sont internalisées dans les cellules principalement par endocytose. Elles s'accumulent dans des vésicules cytoplasmiques, les plus fines atteignent le noyau où elles peuvent directement interagir avec l'ADN.

transformer les espèces réactives en espèces inertes. On dit qu'une cellule subit un stress oxydant lorsque l'équilibre entre génération d'espèces réactives et élimination de celles-ci par les systèmes antioxydants est rompu (figure 6). La cellule accumule des espèces réactives qui peuvent alors altérer les lipides constituant la membrane plasmique ou les membranes des compartiments intracellulaires, oxyder les bases de l'ADN, inhiber des enzymes et autres biomolécules intracellulaires.

Les nanoparticules induisent un stress oxydant soit par action directe (par exemple par génération d'espèces réactives à leur surface du fait de leur séquestration dans des compartiments cellulaires acides tels que les lysosomes), soit par action indirecte (par exemple par adsorption de molécules antioxydantes à leur surface, inhibition de l'activité des enzymes régulant la balance redox cellulaire). En outre, certaines nanoparticules se dissolvent au contact du cytosol, libérant alors des ions métalliques pro-oxydants. Ces effets pro-oxydants des nanoparticules ont été rapportés lors d'exposition *in vitro* de cellules à des nano-oxydes de titane, de fer, des nanosilices, des quantum dots, des nanoparticules d'or et d'argent [12].

Le lien entre stress oxydant et inflammation est connu de longue date. Lors d'une exposition cellulaire à des nanoparticules, même si ce lien n'a pas été formellement démontré, la libération de médiateurs pro-inflammatoires a été largement documentée.

L'induction d'effets génotoxiques a été démontrée lors d'exposition à des nano-oxydes de titane, de fer, des nanosilices, des quantum dots, des nanoparticules d'or et d'argent [12]. Plusieurs études montrent que les nanoparticules les plus fines sont capables de migrer du cytoplasme jusqu'au noyau cellulaire certainement *via* les pores nucléaires. D'autre part, les espèces réactives qui s'accumulent dans les cellules du fait du déséquilibre de la balance redox peuvent migrer jusqu'au noyau. Au contact du nucléoplasme, les nanoparticules ou les espèces réactives interagissent alors avec l'ADN, ou avec les protéines qui maintiennent la structure de la chromatine, ou enfin avec les protéines impliquées dans la réparation de l'ADN. Finalement, les nanoparticules génèrent alors, directement ou indirectement, des dommages à l'ADN ou des perturbations de l'activité des systèmes de réparation [13].

Par leur action pro-oxydante, ou simplement du fait de leur présence dans le cytoplasme, les nanoparticules entraînent également des perturbations de la signalisation cellulaire et de l'expression des gènes, en bouleversant le fonctionnement de la machinerie cellulaire responsable de la transcription, de la traduction et des modifications post-traductionnelles des protéines.

D'autres effets plus ponctuels et réservés à certains types de nanoparticules et à certains types cellulaires

Outre ces effets communs à plusieurs classes de nanoparticules, du fait de leur forme ou de leur réactivité spécifique, certaines nanoparticules sont source d'autres types de dommages. On citera notamment certains effets propres aux nanotubes de carbone qui, de par leur grand facteur d'aspect (ratio longueur/diamètre), perturbent l'activité phagocytaire des macrophages. On parle alors de phagocytose incomplète ou « contrariée » : les macrophages, incapables de mener à bien la phagocytose de ces fibres, libèrent en continu des cytokines pro-inflammatoires qui sont source de dommages dans les tissus environnants. On citera également les effets toxiques des nanoparticules qui se dissolvent, en totalité ou en partie. Par exemple, il est connu que les nanoparticules d'argent, très utilisées pour leurs propriétés bactéricides, limitent le développement bactérien car elles libèrent des ions argent entraînant la mort ou limitant la reproduction des bactéries. D'autres nanoparticules sont susceptibles de se dissoudre ; elles entraînent alors des effets cellulaires qui combinent les effets des nanoparticules et ceux des ions qu'elles libèrent.

Les effets des nanoparticules diffèrent en fonction de leurs propriétés physico-chimiques : diamètre, couronne de molécules adsorbées, et hydrophobie et charge de surface

Comme mentionné précédemment, le devenir des nanoparticules dans l'organisme dépend de leur taille : lors d'une exposition par inhalation, les nanoparticules présentant un diamètre compris entre une dizaine et une centaine de nanomètres se déposeront préférentiellement dans les alvéoles pulmonaires. En fonction de leur diamètre, les nanoparticules d'or traverseront plus ou moins efficacement la barrière pulmonaire ou placentaire. Le diamètre des nanoparticules influence également leurs effets cellulaires : en fonction de ce diamètre, elles s'accumulent dans les cellules *via* différentes voies et sont alors dirigées vers différents compartiments intracellulaires, avec à la clé différents effets toxiques.

Un paramètre physico-chimique particulièrement important est la surface spécifique de la nanoparticule. Cette grandeur, reflétant la surface développée de la nanoparticule et dont l'unité est le m^2/g , est liée au diamètre de la nanoparticule, mais pas uniquement : une nanoparticule poreuse présentera une surface spécifique plus importante qu'une nanoparticule non poreuse de même diamètre. Plus une

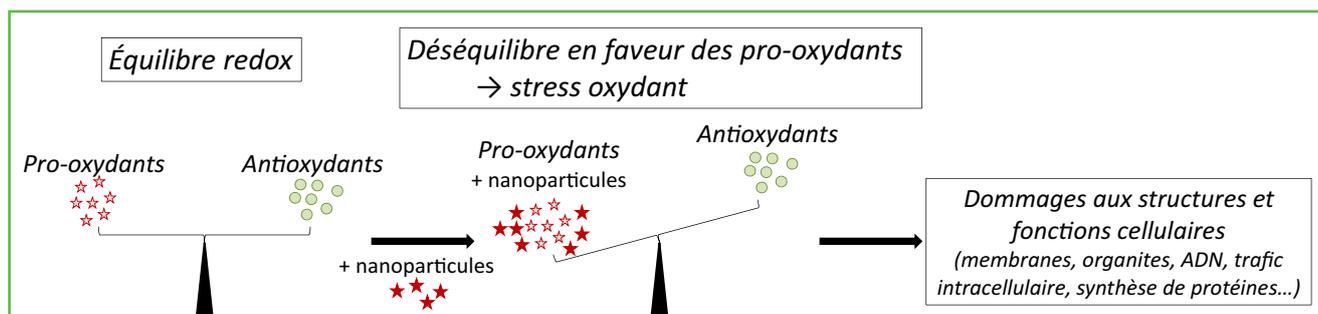


Figure 6 - Perturbation de la balance redox cellulaire par l'exposition à des nanoparticules.

nanoparticule est petite, plus sa surface spécifique est grande. Une grande surface spécifique signifie que la nanoparticule présente un grand nombre d'atomes réactifs à sa surface, qui sont susceptibles d'interagir avec les molécules du milieu (sang, cytosol...). D'autre part, différentes molécules peuvent se fixer sur cette surface, ce qui entraîne deux conséquences toxicologiques. Tout d'abord si les molécules qui se fixent à la surface de la nanoparticule sont des substances toxiques, alors la nanoparticule tiendra lieu de vecteur de ces toxiques dans l'organisme. Cette propriété peut être mise à profit en nanomédecine, puisqu'alors une substance médicamenteuse peut être volontairement liée à la surface d'une nanoparticule ; cette substance médicamenteuse pourra alors être vectorisée par la nanoparticule jusqu'à l'organe cible. Plus grande est la surface spécifique de la nanoparticule, plus grand est le nombre de molécules toxiques – ou de médicament – qui seront véhiculés. La seconde conséquence est que sur cette surface peuvent se fixer des molécules indispensables à la survie de la cellule ou d'un organisme. La nanoparticule devient un piège pour ces substances dont la cellule ou l'organisme sont alors privés. Plus la surface spécifique de la nanoparticule est grande, plus la nanoparticule piège ces molécules.

On comprend aisément qu'une nanoparticule sur laquelle est adsorbé un composé toxique sera plus toxique qu'une nanoparticule sur laquelle est adsorbé un composé inerte. Car finalement les biomolécules, les cellules, les organismes interagissent avec la surface de la nanoparticule et non avec son cœur. Il a été démontré qu'au contact des fluides biologiques, une couronne de molécules se forme à la surface de la nanoparticule. Cette couronne ne doit pas être perçue comme un système figé : lors du transit de la nanoparticule d'un fluide à l'autre, du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire, ou d'un organe à l'autre, cette couronne se modifie en gardant toutefois une empreinte des fluides dans lesquels la nanoparticule a séjourné (figure 7).

Ainsi une nanoparticule qui a été inhalée fixe dans un premier temps des composants du mucus pulmonaire à sa surface. Si cette nanoparticule est alors internalisée dans une cellule pulmonaire, alors les composants du mucus se détachent de sa surface, pour laisser place à des composants du cytosol de la cellule pulmonaire. Et ainsi de suite, si la nanoparticule est transférée à travers la barrière pulmonaire vers le sang, des éléments du sang se fixent alors sur sa surface et chassent une partie des composants du cytosol de la cellule pulmonaire. La nanoparticule peut alors exercer des effets toxiques différents en fonction de son histoire dans l'organisme, et ponctuellement en fonction des substances qui se trouvent fixées à sa surface. Toute la complexité des études de toxicité sur les nanoparticules est alors facilement appréciable.

Il est également compréhensible qu'une nanoparticule qui a été conçue pour être très réactive (par exemple une nanoparticule d'or, qui est un puissant catalyseur de réactions chimiques) peut être totalement inactivée si la surface réactive est couverte par un composé inerte. Une étude récemment publiée montre à ce propos que lorsque des nanotubes de carbone sont recouverts d'un polymère à base de polystyrène, ils engendrent des effets toxiques beaucoup moins importants que lorsqu'ils ne sont pas recouverts [14].

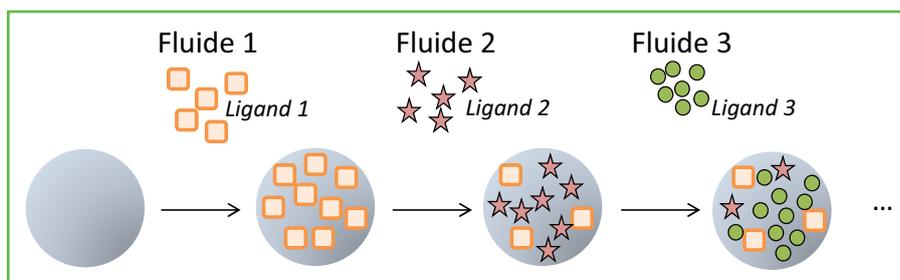


Figure 7 - Constitution d'une couronne de molécules à la surface de la nanoparticule.

La nanoparticule garde une empreinte des fluides dans lesquels elle a séjourné. Finalement, la nanoparticule interagissant avec les cellules présente un profil de surface spécifique de sa voie d'entrée dans l'organisme, des fluides ayant assuré son transfert vers l'organe cible, et de la cellule dans laquelle elle s'est accumulée.

S'ouvre alors la perspective de développer des nanoparticules présentant des propriétés aussi intéressantes que celles qui sont actuellement employées dans les produits de grande consommation, mais qui sont plus sûres de par leur conception. Ainsi en modulant la taille, la forme, la surface spécifique, la couronne de surface des nanoparticules (et en s'assurant que cette couronne ne se détachera pas en fin de vie de la nanoparticule), on peut espérer atteindre ce but. C'est aujourd'hui tout l'enjeu des nouveaux programmes de recherches, basés sur l'éco-conception de nanoparticules et leur production « safe by design ».

Perspectives

Les connaissances actuelles relatives à la toxicité des nanoparticules restent parcellaires. Elles proviennent souvent d'expérimentations menées dans des conditions d'exposition peu réalistes. Ces connaissances sont toutefois utiles car elles ont permis d'identifier les réponses des organismes dans les pires scénarios d'exposition : très fortes concentrations, nanoparticules brutes dont la surface est très réactive et qui sont souvent très bien dispersées.

Dans ces conditions d'exposition, les nanoparticules affectent le fonctionnement des organes cibles, mais elles sont également capables de traverser les barrières physiologiques et d'atteindre des organes secondaires par redistribution *via* la circulation sanguine. Les effets sur les organes cibles vont de l'induction d'un stress oxydant à une inflammation locale et des dommages à l'ADN.

Il reste aujourd'hui à évaluer l'impact des nanoparticules dans des conditions d'exposition plus réalistes : concentrations plus faibles et temps plus longs, simulant une exposition chronique, nanoparticules mûries dans des conditions environnementales, ou tout simplement nanoparticules présentant la couverture de surface qu'elles ont réellement lorsqu'elles sont introduites dans les produits de grande consommation.

Il reste surtout à évaluer l'exposition réelle des travailleurs et des populations. Mais pour cela, de nouveaux dispositifs de mesure doivent être développés et implantés dans les différents lieux de production et d'exposition potentielle aux nanoparticules.

Références

- [1] www.nanotechproject.org/inventories/consumer
- [2] http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/commission_recommendation.pdf
- [3] AFSSET : *Les nanomatériaux – Effets sur la santé de l'homme et de l'environnement*, juillet 2006 ; *Les nanomatériaux – Sécurité au travail*, juillet 2008 ; *Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement*, mars 2010.

- [4] AFSSA, *Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale*, mars 2009.
- [5] INRS, *Nanomatériaux – Prévention des risques dans les laboratoires*, ED6115, janvier 2012.
- [6] www.nanosafe.org
- [7] www.nanosmile.org
- [8] AFSSAPS, *État des connaissances relatif aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc dans les produits cosmétiques en termes de pénétration cutanée, de génotoxicité et de cancérogenèse*, 2011 (www.ansm.sante.fr).
- [9] Pluchery O., Carrière M., Les nanoparticules d'or, *Techniques de l'Ingénieur*, NM900, 2011.
- [10] Carrière M., Lanone S., Que savons-nous aujourd'hui des risques toxicologiques et écotoxicologiques liés aux nanotubes de carbone, *De l'innovation à l'utilisation des nanomatériaux – Le cadre normatif des nanotubes de carbone*, S. Lacour, S. Desmoulin-Canselier, N. Hervé-Fournereau (coord.), Eds Larcier, 2012.
- [11] Johnston H.J., Hutchison G.R. et al., Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO₂ particulates: The contribution of physicochemical characteristics, *Particle and Fibre Toxicology*, 2010, 6(33).
- [12] Soenen S.J., Rivera-Gil P. et al., Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation, *Nano Today*, 2011, 6, p. 446.
- [13] Jugan M.L., Barillet S. et al., Titanium dioxide nanoparticles exhibit genotoxicity and impair DNA repair activity in A549 cells, *Nanotoxicology*, 2012, 6, p. 501.
- [14] Tabet L., Bussy C. et al., Coating carbon nanotubes with a polystyrene-based polymer protects against pulmonary toxicity, *Part Fibre Toxicol.*, 2011, 8(3).
- [15] Chaudhry Q., Scotter M. et al., Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo Risk Assess*, 2008, 25(3), p. 241.



Marie Carrière

est chercheuse au CEA, au Laboratoire Lésions des acides nucléiques, Grenoble* (photo © L. Godart/CEA).

* Laboratoire Lésions des acides nucléiques, UMR E_3 CEA/Université Joseph Fourier, DSM/IINAC/SCIB, 17 rue des Martyrs, F-38054 Grenoble Cedex.
Courriel : marie.carriere@cea.fr



Institut de Chimie Moléculaire de Reims UMR CNRS 7312



Campus Moulin de la Housse – Faculté des Sciences



Campus Santé – Faculté de Pharmacie

Avec un effectif de plus de 110 titulaires et contractuels, l'ICMR développe son activité autour de 5 axes de recherche :

- Méthodologie en synthèse organique
- Biomolécules : synthèse et mécanismes d'action
- Chimie de coordination
- Isolement et structure
- Polymères fonctionnels et réseaux

La plate-forme d'analyse et de transformation (PIAnET) mise en œuvre par l'ICMR apporte un appui aux projets des laboratoires du site rémois ainsi qu'aux partenaires scientifiques externes et aux entreprises, pour la caractérisation structurale des composés moléculaires (produits de synthèse, substances naturelles) et l'analyse chimique quantitative.

Les travaux réalisés débouchent sur de nombreux partenariats de l'ICMR avec le secteur industriel (ARD, Astrium-ST, BASF Beauty Care, Guerbet, Lonza, LVMH, Michelin, Pierre Fabre, Soliance...).

Les domaines de recherche de l'ICMR s'inscrivent dans la stratégie des pôles de compétitivité Industries et Agro-Ressources (IAR) et Materalia, dans les thématiques des structures fédératives CAP-santé et Condorcet (agro-sciences et environnement) et dans des réseaux et groupes thématiques du CNRS (GDR BioMatPro, Chimiothèque Nationale).

L'ICMR est laboratoire support pour les formations Master de l'Université de Reims Champagne Ardenne dans les domaines de la chimie, de la pharmacie, des nano-sciences, de la qualité, de l'environnement et des agro-sciences.



L'ICMR recrute chaque année une quinzaine de doctorants, chercheurs contractuels et permanents.

Les offres correspondantes peuvent être consultées sur le site Internet : www.univ-reims.fr/icmr